

接触抑制シグナルによるケラチノサイトのホメオスタシスとその破綻病態

九州大学生体防御医学研究所ゲノム腫瘍学

鈴木 聡

Mice deficient in one or both copies of *Mob1a* and carrying a trapped mutation in *Mob1b* developed various cancers. Most frequent cancers in these mice resembled trichilemmal carcinomas. Keratinocyte-specific homozygous null mutations of *Mob1a* and *Mob1b* (kDKO) mice showed hyperplasia of keratinocyte progenitors. kDKO keratinocytes exhibited hyperproliferation, apoptotic resistance, impaired contact inhibition, enhanced progenitor self-renewal, and increased centrosomes. In addition, loss of *Mob1a/b*, or activation of downstream *YAP1* were replicated in human trichilemmal carcinomas.

1. 緒言

細胞間の接触により増殖が抑制される‘接触抑制現象 (Contact Inhibition)’は古くからその存在が知られており、この現象は創傷治癒、皮膚幹細胞維持、皮膚形態形成などに重要である。しかしながら、接触抑制に関わる細胞内シグナル活性化機構には、いくつかの細胞表面分子の関与が報告されているのみで、依然多くが不明であった。

近年ショウジョウバエにおいて、接触抑制や器官サイズを制御する新たなキナーゼ経路として、Hippo経路が報告された。哺乳類Hippo経路は、MSTキナーゼとLATSキナーゼの2つのキナーゼカスケードから構成され、この経路は細胞接触などの細胞外力、細胞外基質、ストレス刺激により活性化されて、下流の転写共役因子YAP1をリン酸化し、YAP1を核外に排除するとともに蛋白質を崩壊させ、細胞増殖などを負に制御する¹⁾。Hippo経路はこのような細胞増殖、細胞死、細胞未分化性、細胞遊走、平面極性などを制御して、器官のサイズや腫瘍形成を制御することが、近年わかってきた²⁾。また、Hippo経路のいくつかの遺伝子改変マウスにがんの発症の報告があること³⁾、ヒトがん患者では高頻度にHippo経路分子の発現低下や遺伝子変異をみとめ、これらの有無が悪性度と相関することなどから⁴⁾、Hippo経路はがん抑制遺伝子としても注目され、今後のがん治療の標的経路として期待されている。しかしながら、これまでに作製されたHippo経路分子欠損マウスの多くは胎生致死であったために⁵⁾、Hippo経路分子の成体における役割は多くが依然不明のままである。また、哺乳類各Hippo経路構成分子には相同分子が極めて多いため

に、今後各Hippo経路構成分子の生体における機能解析が必須である。Hippo経路のうち、MSTキナーゼとそのアダプター分子SAV1、LATSキナーゼとそのアダプター分子MOB1の4つがこの経路のコアコンポーネントである。MOB1には7つの相同分子があるが、このうちMOB1AとMOB1Bの2つのみがLATSキナーゼと結合できる。LATSキナーゼはそのキナーゼ活性は非常に弱いものの、MOB1が結合することによって、非常に強いキナーゼ活性を獲得する。しかしながらMOB1の生体における役割は未だ不明であった。

皮膚がんのうち最も頻度の高いものは基底細胞がんであり、結節型の基底細胞がんは毛包由来である。外毛根鞘細胞の増多を特徴とする皮膚外毛根鞘がんは、基底細胞がんと同様に毛包由来の腫瘍であるが、生検が必要な皮膚腫瘍例の0.05%と非常に稀な腫瘍で、発症は高齢者に多く、頭部や顔面、四肢に好発することが知られている⁶⁾。基底細胞がんは今やSHHシグナルの異常によることが判明してきたが^{7,8)}、外毛根鞘がんの原因遺伝子についてはこれまで全くわかっていなかった。

今回我々は、ケラチノサイト特異的なMOB1欠損マウスを作製したところ、このマウスに外毛根鞘がんが発症することを見出した。

2. 実験・結果

MOB1A/MOB1Bは初期発生に必須である

我々はまずMOB1A及びMOB1B単独遺伝子欠損マウスをそれぞれ作製した。しかしながら、これらの2分子は相同性が極めて高く互いにその機能を代償するためか、MOB1A、MOB1B各単独欠損マウスは正常に生育し、表現型を見いだせなかった。

そこで次にMOB1A/MOB1Bを二重に完全欠損(ホモ欠損)するマウスを作製したところ、着床直後に致死となった。これらの胚ではPDGFR α やGATA4の顕著な発現低下をみとめたことから、原始内胚葉への分化障害が致死の一因であると考えられた。



Keratinocytes homeostasis by contact inhibition signaling and its disorders

Akira Suzuki

Division of Cancer Genetics, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University

MOB1A/MOB1B部分欠損による腫瘍の発症

MOB1A/MOB1B二重完全欠損マウスが胎生早期に致死であったことから、MOB1A/MOB1B部分欠損マウス(MOB1AヘテロMOB1Bホモ欠損、あるいはMOB1AホモMOB1Bヘテロ欠損マウス)を長期観察したところ、これらマウスでは皮膚外毛根鞘がん、骨肉腫、筋線維肉腫、唾液腺腫瘍、乳がん、肝がんなどの様々な腫瘍を全例70

週以内に発症し、特に皮膚外毛根鞘がんは全例にみられた(図1、2)。また、これら部分欠損マウスにみられた腫瘍には、残された野生型アレルの欠失(LOH)をみたことから、MOB1が古典的ながん抑制遺伝子として作用することが示唆された。

その他MOB1A/MOB1B部分欠損マウスには、腫瘍形成の他に、歯芽の形成異常や骨梁数の増加、内耳有毛細胞

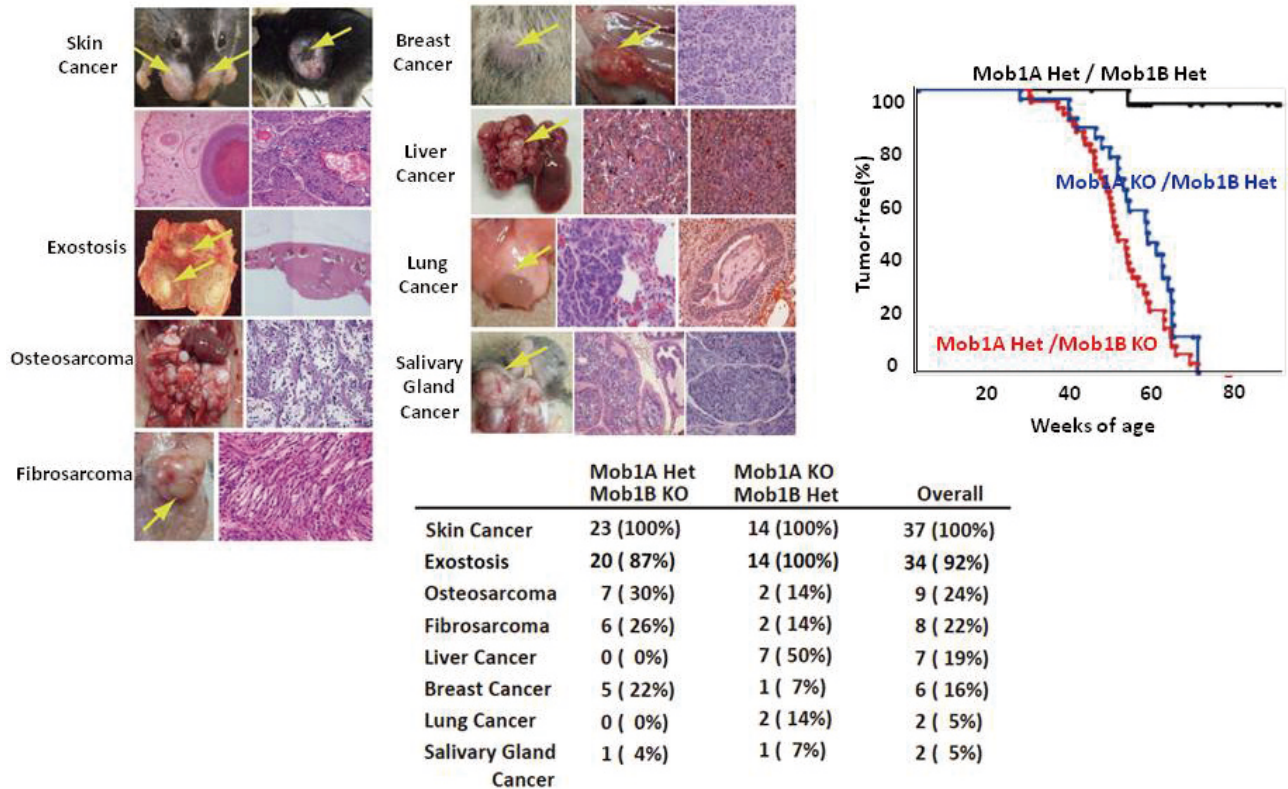


図1 Mob1A/Mob1B部分欠損マウスにみられる腫瘍形成 (JCI 2012⁹⁾ より引用)

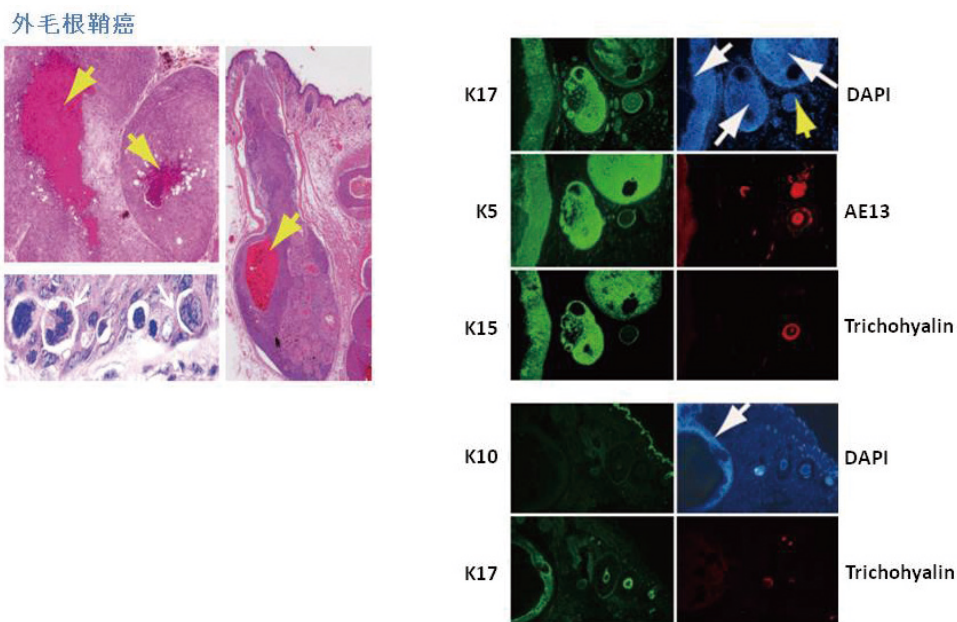


図2 Mob1A/Mob1B部分欠損マウスの全例にみられるKeratin 17陽性の皮膚外毛根鞘がん (JCI 2012⁹⁾ より引用)

の整列障害による平衡障害などの表現型も観察された。

ケラチノサイト特異的MOB1A/MOB1B欠損マウスやMOB1A/MOB1B欠損ケラチノサイトの表現型

前述のようにMOB1A/MOB1B部分欠損マウスに全例皮膚外毛根鞘がんが発症したため、次にタモキシフェン誘導性・ケラチノサイト特異的MOB1A/MOB1B二重ホモ欠損マウスを作製した(タモキシフェンは生後1日目に投与)。ケラチノサイト特異的MOB1A/MOB1B二重ホモ欠損マウスは体が小さいものの、皮膚が顕著に肥厚し、毛髪は細くかつ彎曲していた。これらマウスは口腔粘膜上皮の肥厚による嚥下障害をきたし、生後3週齢までに全例栄養不良で死亡した。組織学的には毛嚢や毛嚢間上皮の顕著な肥厚、皮膚上皮の退縮障害による第一毛髪周期の不明瞭化を示した(図3)。また不全角化が顕著で、Keratin 15, Keratin 14, Keratin 5, SOX9等が陽性の未分化なケラチノサイトが増加する一方、Keratin 10, Filaggerin等が陽性の分化したケラチノサイトの比率は顕著に減少し、未分化性や自己複製能が亢進していた(図4、5)。

細胞生物学的には、MOB1A/MOB1B二重欠損ケラチノサイトは、細胞増殖亢進、細胞死抵抗性、接触抑制障害(図6)、中心体数、染色体数異常、細胞分裂時間短縮(図7)などを認め、これらががんの発症に寄与したものと思われる。

生化学的には、MOB1下流のLATS1/2のリン酸化減少に加え、予期せぬことにLATS1/2は総蛋白質量も顕著に

減少したことから、MOB1はLATS1/2蛋白質の安定化にも関与していることが示唆された。さらに、予想通りYAP1のリン酸化は減少し、細胞密度が高いにも関わらずYAP1が核に集積していた。

ヒト外毛根鞘がんの原因遺伝子としてのMOB1

前述のようにMOB1A/MOB1B部分欠損マウスの全例にみられた腫瘍はKeratin 17(外毛根鞘細胞マーカー)陽性の外毛根鞘がんであった(図2)。

そこで次にヒト外毛根鞘がん組織を用いてMOB1やその下流のYAP1の発現を検討したところ、約半数の症例でMOB1の発現低下を、3/4でYAP1の発現亢進や核局在の増強を認めたことから、MOB1を含むHippo経路の異常がヒト外毛根鞘がんの原因の一因であることを示した(図8)。

3. 考察と統括

本研究によってMOB1は初期発生に必須であること、種々のがんの発症に関与し、特にヒト外毛根鞘がんの一因となること等を個体レベルで世界ではじめて示すことができた⁹⁻¹¹⁾。

Hippo経路は細胞接触や細胞外基質からの刺激をうけて活性化するが、Hippo経路の異常によって高頻度に皮膚発がんに至ることから、今後新たに開発する化粧品の安全性は、Hippo経路の活性化程度を測定することによってスクリーニングできる可能性がある。

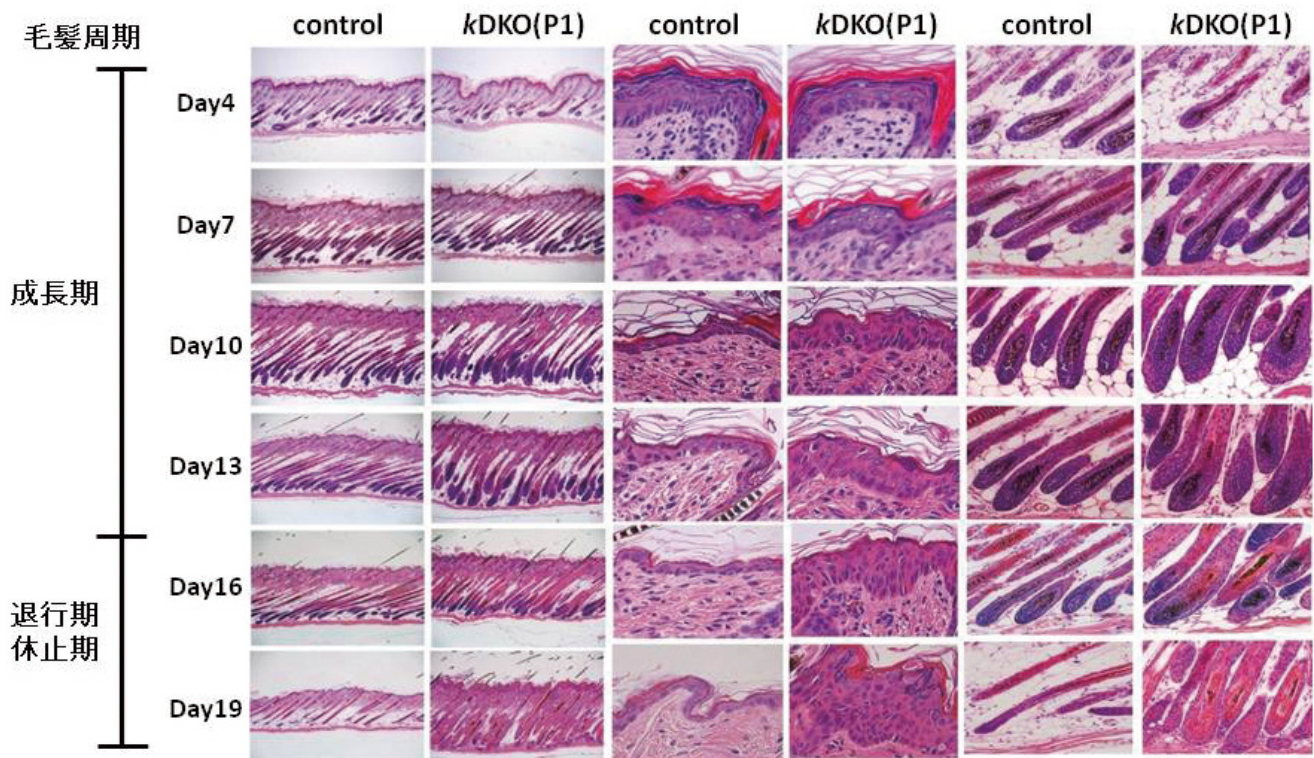


図3 ケラチノサイト特異的Mob1A/1B二重完全欠損マウスにみられる毛嚢や毛嚢間上皮の肥厚と毛髪周期の不明瞭化(JCI 2012⁹⁾より引用)

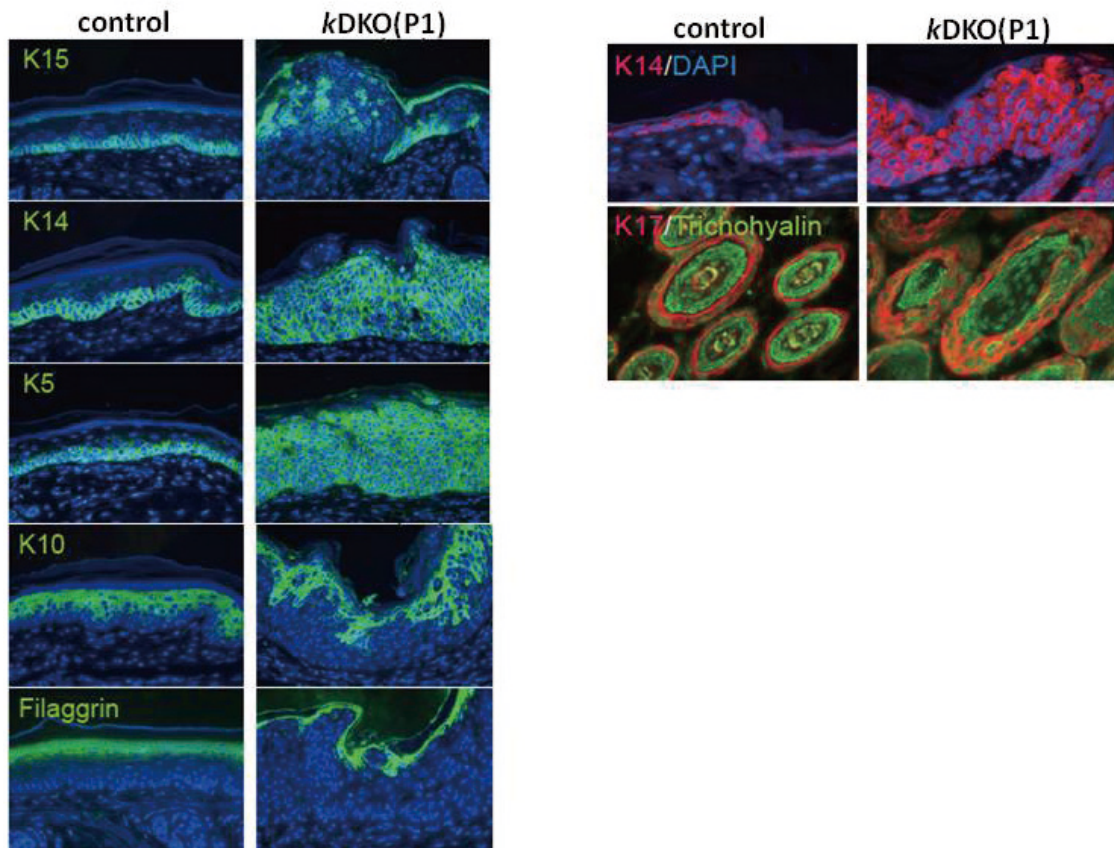


図4 ケラチノサイト特異的 Mob1A/1B 二重完全欠損マウスの毛嚢間上皮細胞にみられる未分化細胞の増加 (JCI 2012⁹⁾ より引用)

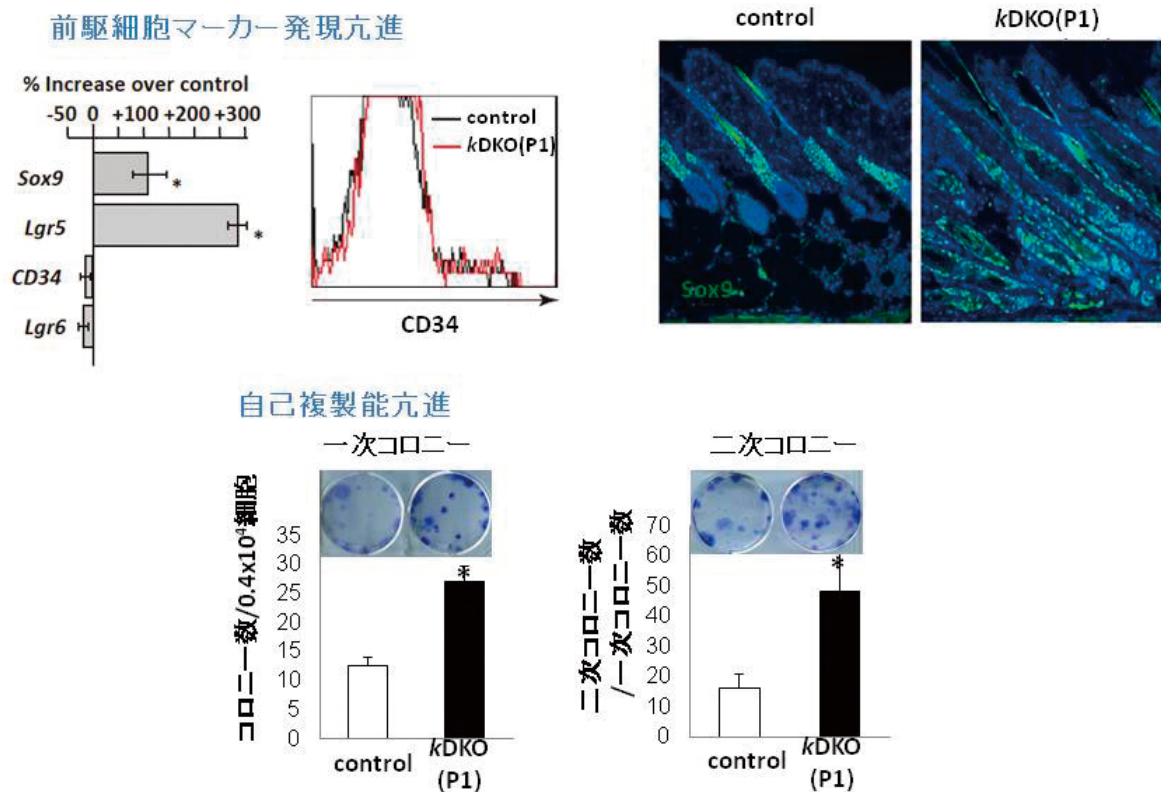


図5 ケラチノサイト特異的 Mob1A/1B 二重完全欠損マウスの毛嚢上皮細胞の未分化細胞の増加と自己複製能亢進 (JCI 2012⁹⁾ より引用)

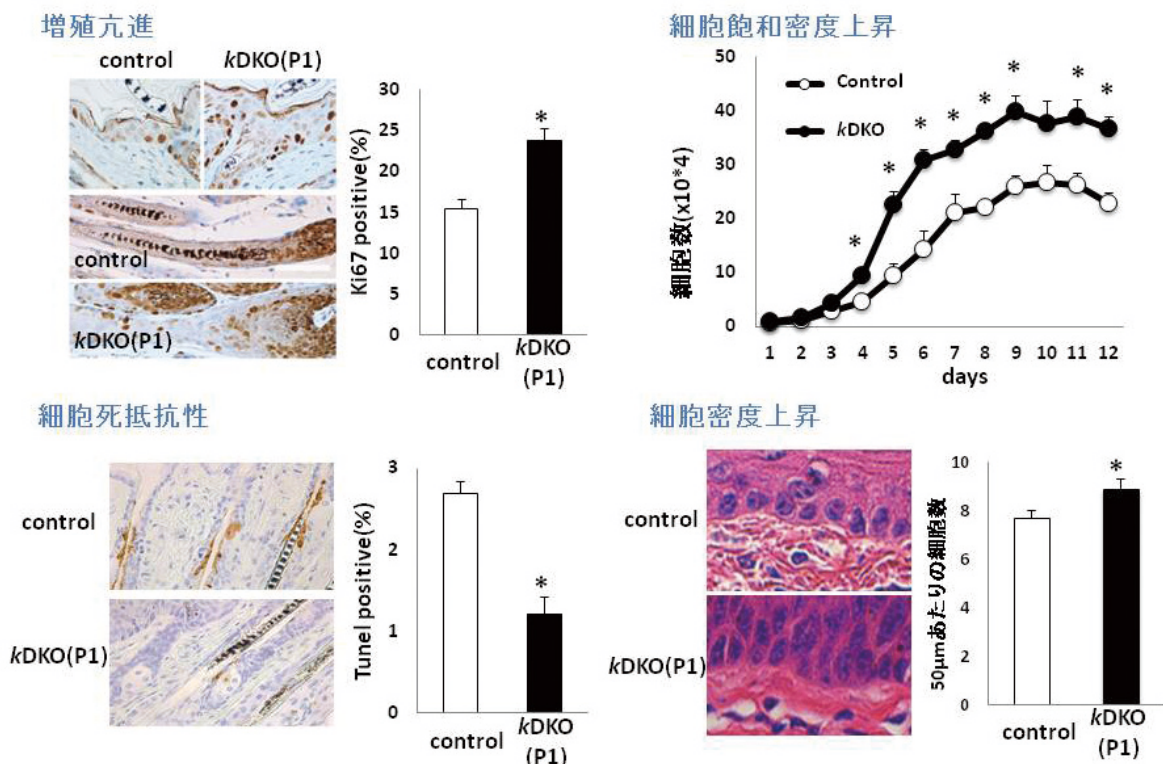


図6 Mob1A/1B 二重完全欠損ケラチノサイトにみられる細胞増殖亢進、細胞死抵抗性、接触抑制障害 (JCI 2012⁹⁾ より引用)

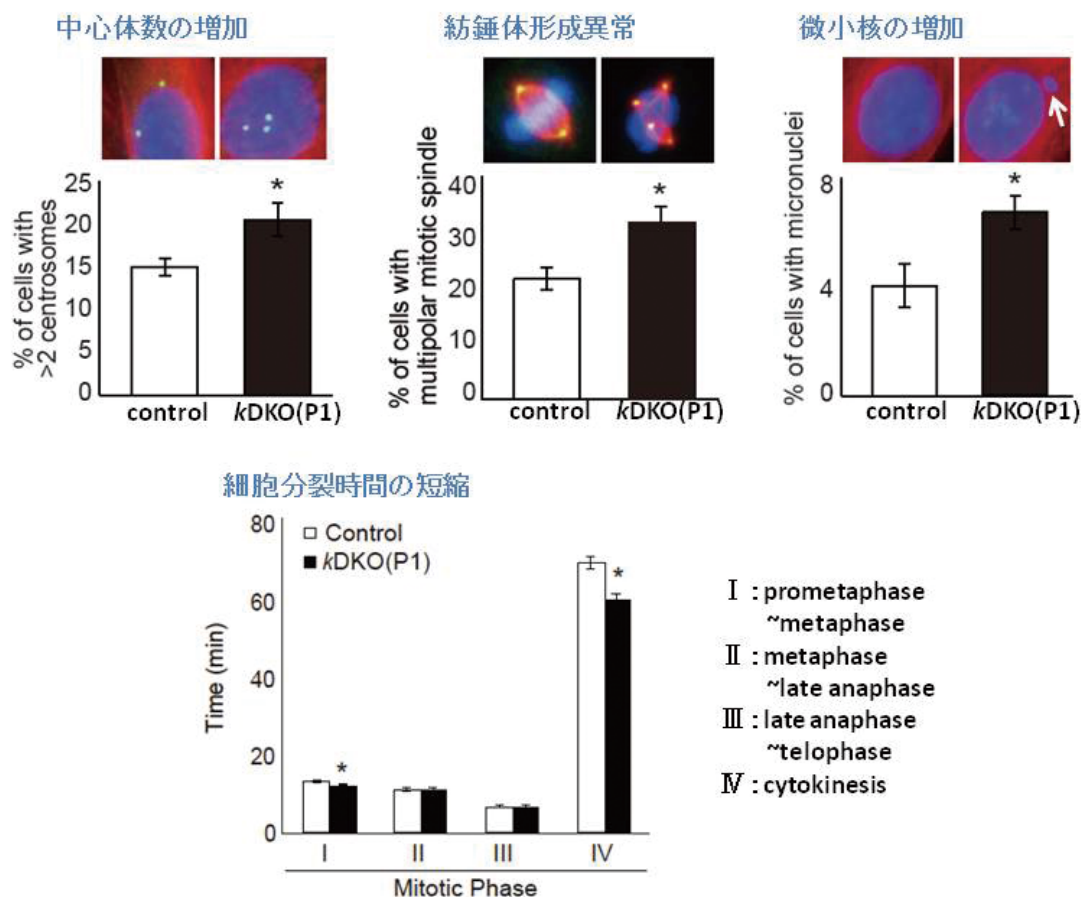


図7 Mob1A/1B 二重完全欠損ケラチノサイトにみられる細胞分裂期異常 (JCI 2012⁹⁾ より引用)

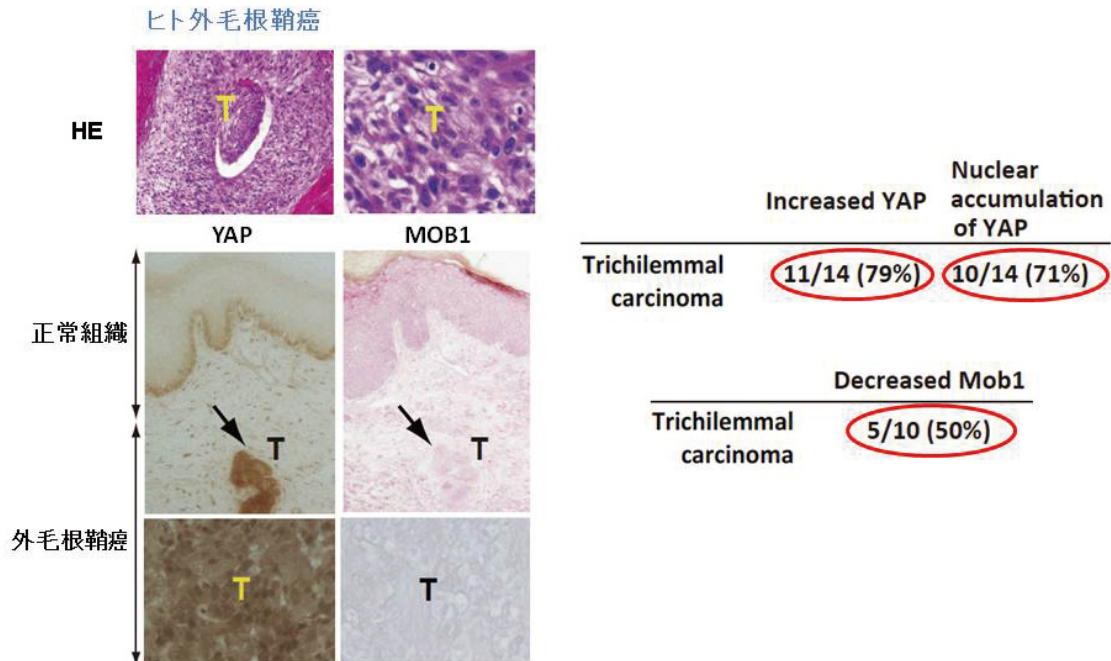


図8 ヒト皮膚外毛根鞘がんにおける MOB1 や YAP1 の異常の頻度 (JCI 2012⁹⁾ より引用)

我々はHippo経路を標的とする新たな抗腫瘍薬の開発にも着手しており、今回作製したマウスは、腫瘍モデルマウスとして薬効評価の良いツールとなる。

今後は皮膚創傷治癒におけるMOB1の役割等を明示するとともに、MOB1の遺伝子変異がヒトメラノーマで報告されていることから、メラノサイトにおけるMOB1の役割も明示したい。さらにMOB1以外のHippo経路構成分子の機能も解析し、総じてHippo経路の皮膚における機能の全貌と、その破綻疾患を明示したい。

謝 辞

研究助成を賜りました公益財団法人コスメトロジー研究振興財団に心から御礼申し上げます。

(文 献)

- 1) Zeng Q, Hong W. The emerging role of the hippo pathway in cell contact inhibition, organ size control, and cancer development in mammals. *Cancer Cell* 13:188-92, 2008
- 2) Zhao B, Tumaneng K, Guan KL. The Hippo pathway in organ size control, tissue regeneration and stem cell self-renewal. *Nat Cell Biol* 13:877-83, 2011
- 3) Edgar BA. From cell structure to transcription: Hippo forges a new path. *Cell* 124:267-73, 2006
- 4) Harvey K, Tapon N. The Salvador-Warts-Hippo pathway - an emerging tumour-suppressor network. *Nat Rev Cancer* 7:182-91, 2007
- 5) McPherson JP, Tamblyn L, Elia A, Migon E, Shehabeldin A, Matysiak-Zablocki E, Lemmers B, Salmena L, Hakem A, Fish J, Kassam F, Squire J, Bruneau BG, Hande MP, Hakem R. *Lats2/Kpm* is required for embryonic development, proliferation control and genomic integrity. *EMBO* 23:3677-8, 2004
- 6) Headington JT. Tumors of the hair follicle. A review. *Am J Pathol* 85(2):479-514, 1976.
- 7) Fan H, Oro AE, Scott MP, Khavari PA Induction of basal cell carcinoma features in transgenic human skin expressing *Sonic Hedgehog*. *Nat Med* 3(7):788-792, 1997.
- 8) Oro AE, Higgins KM, Hu Z, Bonifas JM, Epstein EH Jr, Scott MP. Basal cell carcinomas in mice overexpressing *sonic hedgehog*. *Science* 276(5313): 817-821, 1997.
- 9) Nishio M, Hamada K, Kawahara K, Sasaki M, Noguchi F, Chiba S, Mizuno K, Suzuki SO, Dong Y, Tokuda M, Morikawa T, Hikasa H, Eggenschwiler J, Yabuta N, Nojima H, Nakagawa K, Hata Y, Nishina H, Mimori K, Mori M, Sasaki T, Mak TW, Nakano T, Itami S, Suzuki A. Cancer susceptibility and embryonic lethality in *Mob1a/1b* double-mutant mice. *J Clin Invest*. 122(12):4505-18, 2012.
- 10) Nishio M, Otsubo K, Maehama T, Mimori K, Suzuki A. Capturing the Mammalian Hippo: Elucidating Its Role in Cancer *Cancer Sci* 104(10), 1271-1277, 2013
- 11) 西尾美希、三森功士、森 正樹、板見 智、鈴木 聡. Hippo経路分子MOB1によるがん発症・進展制御とがん治療戦略 次世代がん戦略研究update がん基盤生物学－革新的シーズ育成に向けて－ 南山堂 2013 in press